REACTIVOS BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SA,
02160, Maizy, France

HbA1c

Test Inmunoturbidimétrico

Reactivo para la determinación cuantitativa de la HbA1c en sangre humana

REF 22010	**R1** 1 x 30 mL	**R2a** 2 x 4,75 mL	**R2b** 2 x 0,25 mL	**R3** 1 x 125 mL
REF 22011	**R1** 1 x 60 mL	**R2a** 1 x 19,0 mL	**R2b** 1 x 1,0 mL	**R3** 2 x 125 mL

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS
Tel.: (33) 03 23 25 15 50
Fax.: (33) 03 23 256 256

CE

IVD **USO IN VITRO**

SIGNIFICACION CLINICA (1) (2) (3) (4)

Reactivo para la determinación de la concentración en HbA1c en sangre humana. La determinación de la HbA1c es comúnmente usada en el seguimiento glucémico de los pacientes diabéticos. Los valores de HbA1c dan una indicación de los valores de la glucemia durante las 4-8 últimas semanas. Una elevación de la tasa de HbA1c indica un mal control glucémico. No usar para el diagnostico del Diabetes Mellitus.
Los límites del método son conocidos: están ligados a una duración de vida modificada de los glóbulos rojos, una hemólisis fisiológica, una tasa de hemoglobina total insuficiente que pueden invalidar el resultado de la determinación.

PRINCIPIO (5)

Medida fotométrica del turbidez provocado por la reacción antígeno-anticuerpo en método punto final a 600 nm para determinar directamente la concentración en HbA1c en la sangre total.
La hemoglobina normal y el HbA1c tienen la misma tasa de adsorción no específica en las partículas de látex. En presencia de anticuerpos monoclonales de ratón anti HbA1c humana (Reactivo R2), se forma un complejo Látex/HbA1c/anticuerpo anti HbA1c humana. La aglutinación tiene lugar cuando el anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón interactúa con el anticuerpo monoclonal.

REACTIVOS

Vial R1 **LATEX** (Concentración en el Test)

Látex	0,13	%
Tampón Glicina	20	mmol/L
Azida de Sodio	0.95	g/L

Vial R2a **ANTICUERPO**

Anticuerpo monoclonal de ratón anti-HbA1c humano 0,05 mg/mL
Tampón, estabilizantes

Vial R2b **ANTICUERPO**

Anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón 0,08 mg/dL
Estabilizantes

Vial R3 **SOLUCION HEMOLIZANTE**

Solución acuosa
Azida de Sodio 0.5 g/L

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.

- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar un médico.
- Los reactivos contienen azida de sodio (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre y el plomo de las tuberías. Enjuagar con abundancia.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los deshechos: respetar la legislación en vigor.

Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Reactivo R1 (Vial R1): Listo para el uso
Reactivo R2: verter el contenido del vial R2b en el vial R2a, tapar y mezclar lentamente.
Reactivo R3 (Vial R3): Listo para el uso

ESTABILIDAD Y CONSERVACION

Almacenar a 2 - 8° C, protegido de la luz. (No congelar).

- Antes de abrir, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Después de abrir y en ausencia de contaminación y almacenados a 2-8°C en los viales de origen:
  Los reactivos R1 y R3 son estables por lo menos 3 meses.
  El reactivo R2 (R2a + R2b) es estable por lo menos 30 días.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. NaCl 9 g/L (punto cero de la curva de calibración)
2. Calibradores y Controles.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (6)

Sangre total venosa recién extraída en EDTA en condiciones asépticas sin preparación particular del paciente. No hay aditivo u otro conservador requerido excepto el anticoagulante.

Preparación del hemolizado (pacientes, calibradores y controles):

1. Distribuir 1 mL de reactivo Hemolizante (Vial R3) en tubos de plásticos o de cristal de tamaño adecuado previamente identificados.
2. Añadir 20 µL de muestra, previamente bien mezclada (Muestra: calibradores, controles, pacientes).
3. Bien mezclar.
4. Dejar 5 minutos a temperatura ambiente hasta la lisis completa de los eritrocitos.
5. Realizar la determinación de la l'HbA1c (§ **MODO DE EMPLEO**)

Si el test no puede ser realizado en el día, almacenar el hemolizado durante un máximo de 7 días, a 2-8° C.

Para una conservación prolongada, congelar la muestra a -70° C durante un máximo de 30 días.

CALIBRACION

- Kit de calibración REF 22012 (4 x 0,5 ml) trazable sobre materiales de referencia en el sistema NGSP. Correspondencia con el sistema IFCC a traves de la "Master Equacion" IFCC-NGSP (§ CALCULO)

Utilizar como indicado en las instrucciones (§ **MODO DE EMPLEO**) para realizar la curva de calibración.

La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.
Se recomienda calibrar sistemáticamente

Versión: ES 22010 HBA1C 16 07 2013

CONTROL DE CALIDAD

- BIOLABO "Kit de control" REF 22013: 1 x 0,5mL (tasa normal) y 1 x 0,5mL (tasa elevada).
- Cualquier otro controlo titulado para este método.
- Programa externo de control de calidad.
- Cada 6 meses, se recomienda comprobar la linealidad con una gama de HbA1c del comercio o con diluciones de una muestra a tasa elevada.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir el test utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un suero de control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro calibrador o un calibrador recién reconstituido y repetir el test.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, calibrar de nuevo utilizando otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (7) (8) (9)

Valores de referencia [8]:

	HbA1c NGSP (%)	HbA1c IFCC (mmol/mol Hb)
No diabética:	< 6.0 %	42
Persona diabética (Control de glucemia):	< 7.0 %	53

Los resultados de HbA1c usados para el seguimiento de los pacientes diabéticos deben ser interpretados individualmente. Para eso, el paciente debe ser seguido "contra" el mismo.

Existe un desajuste de 3 o 4 semanas antes que la HbA1c refleje una tasa de glucosa sanguínea.

Se recomienda a cada laboratorio de comprobar la coherencia de los valores de referencia para la población concernida.

PRESTACIONES

Los estudios del reactivo HbA1c han sido realizados sobre analizador de química clínica (Hitachi 917)

Los estudios de repetibilidad y reproducibilidad han sido realizados en 2 muestras de sangre según el protocolo NCCLS EP5.

Intra-serie	*Tasa baja*	*Tasa elevada*
Promedio %	5,5	10,3
S.D. %	0,08	0,18
C.V. %	1,43	1,72
Norma CV%	< 3%	< 3%

Inter-serie	*Tasa baja*	*Tasa elevada*
Promedio %	5,5	10,3
S.D.%	0,15	0,28
C.V. %	2,77	2,68
Norma CV%	< 4%	< 4%

Limite de detección: aproximadamente 2.0%

Sensibilidad: 0,073 Abs/1,0% HbA1c

Especificidad: Mono específico

Comparación con un método HPLC (Tosoh): realizado en un panel de 40 muestras sanguíneas entre 2,0 y 16,0% de HbA1c.

y = 1,050 x – 0,481 (Syx = 0,332)

INTERFERENCIAS (*5) (10) (11) (12) (13) (14) (15)*

Bilirrubina: No hay interferencias hasta 500 mg/L.

Acido ascórbico: No hay interferencias hasta 500 mg/L.

Triglicéridos: No hay interferencias hasta 20 g/L.

Hb carbamilada: No hay interferencias hasta 7,5 mmol/L

Hb acetilada: No hay interferencias hasta 5,0 mmol/L.

Resultados incoherentes han sido notificados en caso de adicción a los opiáceos, de envenenamiento al plomo, de alcoholismo o de ingestión de una cantidad importante de aspirina [10] [11] [12] [13].

Ha sido notado que tasas elevadas de HbF pueden conducir a una subestimación de la HbA1c[14]. También, aparece que los compuestos lábiles (Basa de Schiff) no son detectables y entonces no interfieren con la determinación por inmuno-ensayo de la HbA1c[15].

Ha sido demostrado que las variables HbA2, HbC, y HbS de la hemoglobina, no interfieren con este método.

Otras variables raras de la hemoglobina (HbE) no han sido testadas.

Young D.S. publico una lista de substancias que interfieren con la dosificación.

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal entre 2,0% y 16,0%.

MODE DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.
Antes del uso, poner de nuevo en suspensión por inversiones el Reactivo Látex (Vial R1).
Reconstituir los calibradores y controles como se indica en las instrucciones.

Preparación del hemolizado: Lisar las muestras de los pacientes, calibradores y controles como indicado en el § « **Toma y preparación de la muestra** »

Curva de calibración:

Realizar la curva de calibración utilizando el Kit de calibración listo para el uso REF 22012 (4 tasas diferentes).
Utilizar NaCl 9 g/L para determinar el punto cero.

Test:

Medir en tubos de ensayo bien identificados :	Blanco	Calibradores	Determinación
Reactivo Látex **(Vial R1)**	700 µL	700 µL	700 µL
NaCl 9 g/L	20 µL		
Calibradores (4 tasas diferentes)		20 µL	
Muestra			20 µL
Mezclar. Incubaron 5 minutos a 37°C.			
Anti-HbA1c (Reactivo R2)	250 µL	250 µL	250 µL
Mezclar. Dejar reposar exactamente 5 minutos a 37°C. Leer las absorbancias de los calibradores lisados, controles lisados y muestras lisadas a 600 nm contra el blanco.			

Notas:

- Las muestras de pacientes deben siempre ser determinadas utilizando una curva de calibración.
- Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar el servicio técnico BIOLABO.

CALCULO *(16)*

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:
Calcular ΔAbs (Abs $_{ensayos}$ – Abs $_{blanco}$) de los calibradores, controles y muestras.
Resultado NGSP (%):
Trazar la curva de calibración "HbA1c (%) = f(ΔAbs)".
Leer las concentraciones de los controles y pruebas sobre la curva.
Los resultados están dados en % de HbA1c frente a HbA.
Resultado (mmol/mol Hb):
Utilizar la "Master Equacion"

IFCC (mmol/mol Hb)=(NGSP-2,15)/0,915*10

BIBLIOGRAFIA

(1) Trivelli.,L .A, Ranney., H. M. and Lai, H.T.New Eng. Med. 284, 353 (1971)
(2) Gonen B. and Rubenstein A. H., Diabetologia,15, 1 (1978).
(3) Gabbay K.H., Hasty K,. Breslow J. L., Ellison R.C.,Bunn H. F.,and Gallop P.M., J.Clin. Endocrinol Metab.44, 859 (1977)
(4) Bates H. M., Lab. Mang., vol 16 (Jan 1978)
(5) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p.798, 800.
(6) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 480-483
(7) American Diabetes Association: Clinical practice recommendations (Position Statement). Diabetes Care (Suppl.1) : S33-S55 (2001)
(8) Recommandations HAS (antérieurement ANAES) relatives au "Suivi du patient diabétique de type 2 à l'exclusion du suivi des complications" (janv. 1999)
(9) Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (Actualisation 2006) : Recommendations HAS
(10) Cerellio, A. et Al., diabetologia 22, p.379 (1982)
(11) Little R. R., et al., Clin. Chem. 32, p.358-360 (1986)
(12) Fluckiger R., et al., New England J. Med. 304, p.823-827 (1981)
(13) Nathan D. M. et al. , Clin. Chem. 29 p.466-469 (1983)
(14) Engbaeck F. et al., Clin. Chem. 35 p.93-97 (1989)
(15) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-331 to 3-332
(16) Ragnar Hanas, Garry John and On behalf of the International Consensus Committee "2010 Consensus statement on the worldwide Standardization of the Hemoglobin A1C Measurement"
(17) Hoelzel W., Weykamp C., Jeppson J.O., Miedema K., Baar J. R. IFCC "Reference System for Measurement of Hemoglobin A_{1c} in Human Blood…", Clin. Chem.50:1, p.166-174 (2004)

Made in France Versión: ES 22010 HBA1C 16 07 2013